

Publication Language: FRE

Agent(s): Bressand, Georges et al 00014331 c/o CABINET LAVOIX 2 Place d'Estienne d'Orves 75441 Paris
Cédex 09 FR

Record 3: JP63084478A

(ENG) CELL-FUSION CHAMBER

Assignee: SHIMADZU CORP

[no drawing available]

Inventor(s): IWASAKI ISAO ; SOGAWA KOJI

Application No: JP 22897586 A

Filing Date: 19860926

Issue/Publication Date: 19880415

Abstract: (ENG) <sec>PURPOSE: To save the labor for picking cells one by one, by forming a pair of thin and long electrodes in a chamber space, placing a diaphragm at a part having large density gradient of electric line of force, fusing cells on the diaphragm and transferring the fused cells together with the diaphragm to a culture device. CONSTITUTION: Cell fusion is carried out by applying an electric stimulation to a cell suspension liquid held between a pair of oppositely placed electrodes 1, 2. The electrodes 1, 2 are made to be sufficiently thin and long compared with the chamber space to enable the generation of high density gradient of electric line of force near the electrodes. Diaphragms 3, 3' are placed at the parts having high density gradient of electric line of force. Since cell- fusion is carried out on the diaphragm, the labor for picking the cells one by one with a micromanipulator can be saved by transferring the culture device together with the diaphragm. Furthermore, since the cells are not treated by mechanical operation, the damage of cells can be prevented to improve the growth of the fused cell. </sec>

Priority Data: JP 22897586 19860926 A I;

IPC (International Class): C12M00100; C12N00500; C12N01300; C12N01500

ECLA (European Class): C12M00300E

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-84478

⑤ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和63年(1988)4月15日

C 12 M 1/00
C 12 N 5/00
13/00
15/00

8717-4B
6760-4B
7329-4B
8412-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 細胞融合チャンバ

⑰ 特 願 昭61-228975

⑱ 出 願 昭61(1986)9月26日

⑲ 発 明 者 岩 崎 功 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三条工場内

⑲ 発 明 者 十 川 好 志 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三条工場内

⑳ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

㉑ 代 理 人 弁理士 武石 靖彦

明 細 書

1. 発明の名称

細胞融合チャンバ

2. 特許請求の範囲

(1) 互いに対向する一対の電極を備え、これらの電極間に收容された細胞懸濁液に電気刺激を与えて細胞を融合させる細胞融合チャンバにおいて、前記一対の電極をチャンバ空間に対して十分細長くつくることにより電極付近で電気力線の密度勾配が大きくなるように構成すると共に、電気力線の密度勾配の大きいところに隔膜を設けたことを特徴とする細胞融合チャンバ。

(2) 隔膜が細胞を付着しやすいセルロース膜または細胞との親和性を増す加工を施した合成繊維膜からなる特許請求の範囲第1項記載の細胞融合チャンバ。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

本発明は、二種類の細胞を電気刺激を利用して融合させる細胞融合チャンバに関する。

(ロ) 従来技術

電気刺激を用いて細胞を融合させる場合、1対の対向した電極を有した細胞融合チャンバに細胞懸濁液を入れ、電極間でAC電界を印加する。これにより細胞懸濁液中に浮遊している細胞同士を密着させ、この状態でDC電界を印加して細胞を融合させる。

(ハ) 発明が解決しようとする問題点

従来のチャンバで融合した細胞は、チャンバ内にランダムに点在していた。従って、融合細胞をチャンバから取り出し培養装置に移すには、マイクロマニピュレータ等の細胞取得装置を用いて融合細胞を集める必要がある。しかもこの場合、全ての細胞を拾うには多大な労力と時間を要し、また、細胞を傷つけないために細心の注意が必要であった。

このことは、融合細胞の培養を行う上で一つのネックとなっていた。

問題点を解決するための手段

本発明は、互いに対向する一対の電極をチャンバ空間に対して十分細長くつくることにより電極付近で電気力線の密度勾配が大きくなるように構成すると共に、電気力線の密度勾配の大きいところに隔膜を設けする。

隔膜としては細胞を付着しやすいセルロース膜または細胞との親和性を増す加工を施した合成繊維膜で構成する。

作用

本発明は、電気力線の密度勾配が十分発生している電極間に隔膜が位置し隔膜上に細胞を引き寄せ隔膜上で融合が起こる。そして融合させた細胞が付着している隔膜をチャンバから取り出す。

実施例

本発明を実施例に基づいて説明する。第1図(a)が本発明に係るチャンバの概略図、第1図(b)が第1図(a)のA-A断面図である。
融合チャンバCは電極1と電極2が対応して

細胞は隔膜3、3'があるためにここに付着し、固定される。この時の状態図を第2図に示す。7が細胞、8が電気力線である。

このようにしてしばらくAC電界を印加すると細胞の上に細胞が付着しベアリングを起こす。

ベアリングが起きた時点でもDC-AC切換スイッチ(図示せず)をDCパルス発生器(図示せず)の方に切換えDCパルス(例えば植物細胞では1.5kV/Cm, 30μs)を印加する。細胞にDCパルスが印加されると隔膜3、3'の上で細胞同士が融合を引き起こす。

隔膜3、3'上で細胞が融合すると、その隔膜3、3'をチャンバCから取り出し、培養装置(図示せず)に移す。

なお、以上の説明では、異種の細胞A種、B種をともに懸濁して融合させる方法を述べているが、まずA細胞だけをチャンバに入れAC電界を印加し、隔膜にA細胞を付着させる。そして、A細胞がすべて付着した段階でB細胞

チャンバ本体4に設けられており、各々の電極からは接続端子5が出ている。チャンバ本体4の底面には細胞の状態を観察できるようガラスの様な透明体でできたチャンバ底板10が設けられている。

電極1、2は電極付近で電気力線の密度勾配が大きくなるようにチャンバ空間に対して十分細長く構成されている。このような電極としてはワイヤ電極が考えられる。そして電極1、2付近で電気力線の密度勾配が大きくなる場所に細胞の径よりも小さな細孔を有した隔膜3、3'を着脱自在に設けてある。隔膜はたとえばセルロース膜あるいは細胞と親和性を増す加工を施した合成繊維膜でつくる。この構成で、細胞を含んだ細胞懸濁液を融合チャンバCの隔膜3と3'の間に入れ、まずAC電界発生器(図示せず)でAC電界を電極間に加える。AC電界が加わると電気力線は電極1、2の付近が最大となるので細胞はその密度の高い方、すなわち電極の方に引き寄せられる。電極1、2の方に引き寄せられた

細胞をチャンバに入れる。するとA細胞の上にB細胞が付着することとなり、この状態でDCパルスを印加するとAとB細胞が融合することとなりハイブリドーマ(雑種細胞)が効率よく作ることができる。

効果

本発明は隔膜上で細胞を融合させているので、隔膜ごと培養装置に移すことにより、マイクロマニピレータを用いて細胞を一つずつ拾う手間がはぶける。

また、機械的操作を細胞に対して行わないため細胞を傷つけず、そのため後での生育の活性が高くなる。

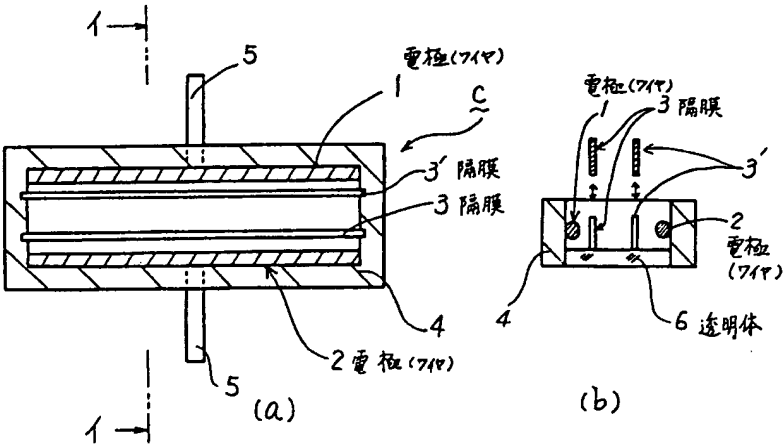
更に、融合しなかった細胞は隔膜を取出した時にチャンバに残るので取出した全細胞中の融合細胞数の確率が上がる。

4. 図面の簡単な説明

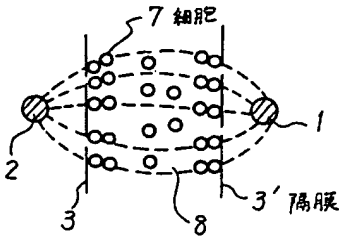
第1図(a)が本発明に係るチャンバの概略図、第1図(b)が第1図(a)のイ-イ断面図、第2図が本発明の作用図である。

1, 2 ... 電極 3, 3' ... 隔膜

特許出願人 株式会社 島津製作所
代理人 弁理士 武石 靖彦
島津製作所
印字



第1図



第2図